



ANNALES

**CONFÉRENCE INTERNATIONALE
SUR LES RAVAGEURS
EN AGRICULTURE**

**INTERNATIONAL CONFERENCE
ON PESTS IN AGRICULTURE**

TOME I

7-8-9 décembre 1993

le Corum - Montpellier

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE
HOPLOCHELUS MARGINALIS
[COLEOPT., MELOLONTHINAE]
A L'AIDE DE *BEAUVERIA BRONGNIARTII*
[DEUTEROMYCOTINA, HYPHOMYCETE]

B. VERCAMBRE⁽¹⁾, O. GOEBEL⁽¹⁾, C. NEUVEGLISE⁽²⁾,
C. DESGRANGES⁽³⁾, P. ROBERT⁽²⁾, G. RIBA⁽²⁾

[1] Laboratoire d'Entomologie, CIRAD-CA Réunion, 97487 St-DENIS Cedex

[2] Laboratoire de lutte biologique, INRA La Minière, 78380 GUYANCOURT

[3] Plateforme de Pré-développement en Biotechnologie, INRA Dijon 21034 DIJON

RESUME :

Depuis 1989, trois essais menés sur canne à sucre ont permis de comparer divers traitements à base de *Beauveria brongniartii* contre *Hoplochelus marginalis* (Coleoptera, Melolonthinae), ravageur polyphage introduit accidentellement de Madagascar à La Réunion. Les résultats montrent que le champignon s'installe dès la première année et réduit progressivement les populations de vers blancs au-dessous d'un seuil de nuisibilité économique après une seule application initiale à dose économiquement viable.

Mots-clés : *Beauveria brongniartii*, ver blanc, lutte biologique, canne à sucre, Ile de La Réunion.

SUMMARY :

BIOLOGICAL CONTROL AGAINST *HOPLOCHELUS MARGINALIS* (COLEOPTERA, MELOLONTHINAE) WITH *BEAUVERIA BRONGNIARTII*.

Since 1989, three trials on sugarcane have allowed comparison of several treatments with *Beauveria brongniartii* against *Hoplochelus marginalis* (Coleopt., Melolonthinae), a polyphagous pest accidentally introduced from Madagascar into Reunion. Results show the mycose is present in the first year and gradually reduces the white grub populations under an economic threshold with only one application economically compatible.

Key Words : *Beauveria brongniartii*, white grub, biological control, sugarcane, Reunion Island.

I- INTRODUCTION

La Réunion est une île de 2.512 km² située à 600 km de la côte Est de Madagascar. Sa formation volcanique lui donne un aspect montagneux culminant à 3.069 m d'altitude. La culture de la canne à sucre constitue encore le pivot de l'agriculture, couvrant 32.300 ha, soit 52,0 % de la Surface Agricole Utile (INSEE, 1992). C'est sur cette culture que fut signalée en Juin 1981 la présence de *Hoplochelus marginalis*. Ce hanneton à cycle annuel, endémique de Madagascar, a été introduit accidentellement dans l'île en 1972. C'est un ravageur polyphage dont seule la larve est nuisible s'alimentant aux dépens des racine d'un grand nombre de plantes, cultivées ou non. L'opération de lutte biologique engagée dès 1982 a abouti à l'introduction d'une souche de *Beauveria brongniartii* (VERCAMBRE et al., 1991 a). Les tests de pouvoir pathogène en laboratoire (GOEBEL, 1989) ont été suffisamment satisfaisants pour éprouver les potentialités agronomiques de cette mycose en conditions naturelles. Cette communication en rapporte les premiers résultats.

II- MATERIEL ET METHODES

1- La souche a été prélevée en Mai 1987 sur une larve de *H. marginalis* lors de prospections à Madagascar.

2- Les produits : deux préparations biocides ont été utilisées :

- une préparation (RIZ) à base de conidiospores (2.10⁸ conidies/g de riz frais) formulée sur du riz selon une méthode mise au point à l'INRA. Ce produit a été conditionné par le CIRAD-Réunion ;
- une préparation (GRA) à base de mycélium et de blastospores (10⁸ à 10⁹ propagules/g sec) formulée sur des granulés d'argile selon un procédé industriel INRA/CALLIOPE. Le produit a été conditionné par la Plateforme de Prédéveloppement en Biotechnologie (INRA/Dijon).

Ces préparations ont été comparées au traitement insecticide de référence recommandé par le Service de Protection des Végétaux. Ce produit à base de Chlorpyrifos-éthyl garde une action insecticide suffisante pendant 3 ans à La Réunion quand on l'applique à la dose de 28 kg PC/ha (BASSO-BERT, 1988).

3- Dispositif expérimental : en 1989, trois essais situés dans l'Ouest de l'île ont été mis en place sur canne à sucre, cette culture subissant les dégâts les plus graves. Un dispositif en blocs de Fisher a été adopté pour tenir compte des pentes. Les caractéristiques expérimentales sont résumées au tableau I.

4- Mode d'application : sur la canne en repousse (essais LORION et LAURET), les produits furent enfouis à 20 cm de profondeur dans 2 tranchées creusées de part et d'autre de la ligne de canne, la parcelle témoin subissant la même procédure. Sur l'essai CERF, les produits ont été enterrés avec les boutures dans le sillon de plantation.

5- Prélèvements, critères et exploitation des résultats : L'unité de prélèvement est un trou de 0,5 m x 0,5 m de surface sur 0,4 m de profondeur centré sur une souche de canne à sucre. On effectue un trou/ligne, soit 9 à 11 trous/parcelle élémentaire/sondage. Trois sondages sont répartis au cours du cycle végétatif de la canne (Février à Juillet). Les critères retenus sont : nombre moyen de vers blancs/trou ; % de baisse de population/témoin ; % de larves mycosées au champ ou en quarantaine (évaluée sur les vers blancs vivants prélevés au champ et placés en laboratoire à 25 °C pendant 4 semaines).

L'objectif est de parvenir à des densités inférieures à 4 vers blancs/trou, qui a été déterminé comme seuil économique moyen de nuisibilité pour la zone où sont implantés les essais (VERCAMBRE et al., 1991 b), en fonction du traitement insecticide.

Les données recueillies ont été exploitées par une analyse de variance et par le test de comparaison des moyennes de NEWMAN/KEULS au seuil de 5 %.

III- RESULTATS

L'altitude et la saison des pluies (Novembre à Mars) ont favorisé les conditions d'humidité propices à la reprise de croissance du champignon sur les essais LORION et LAURET. En revanche, une période de sécheresse sur l'essai CERF n'a pas été favorable à la mycose et a entraîné une mauvaise reprise de la culture de canne. Les résultats obtenus apparaissent au tableau II.

a- *Niveau des populations larvaires dans les parcelles témoins*

On peut séparer les essais en 2 groupes : LORION ET LAURET d'une part, où les populations atteignent ou dépassent le seuil de nuisibilité économique durant l'expérimentation, et CERF d'autre part où les populations sont faibles, liées pour une grande part à l'hétérogénéité de la culture qui n'a pu être suivie que pendant 2 ans.

b- *Evolution des populations larvaires et de la mycose*

Les essais LORION et LAURET montrent à nouveau une évolution très proche :

- action rapide de la mycose abaissant les populations larvaires de 50 % par rapport au témoin. En fin de cycle de culture (six mois après l'application), 20 à 25 % des larves dans le sol sont mycosées.

- développement progressif de la mycose dès Mars de la 2ème année d'expérimentation, parvenant respectivement en fin de cycle à 70-90 % de baisse de populations et 70-80 % de larves mycosées ;

- baisse corrélative des niveaux de populations au-dessous du seuil économique dans toutes les parcelles en 3ème année d'expérimentation, y compris les témoins qui sont progressivement envahis par le germe, parfois dès la 2ème année (LORION, 1990) ;

- l'effet dose, important en début d'expérimentation, n'est plus sensible deux ans plus tard (LORION, pré1. 2, 1990) ;

- supériorité de la préparation RIZ vis-à-vis de la préparation GRA durant 2 ans, parfois significative à la dose 300 kg/ha (LAURET, pré1. 3, 1990 ; pré1. 1 et pré1. 2, 1991).

Bien qu'interrompu fin 1990, l'essai CERF indique des tendances semblables quant à la baisse de populations par rapport au témoin. De plus, les préparations ont une efficacité si élevée, qu'elles dissimulent l'effet dose, non perceptible entre 50 et 300 kg/ha et montrent un taux plus élevé de larves mycosées (70 % en fin de cycle contre 20-25 % pour les deux autres essais).

Pour les essais où il est utilisé, l'insecticide a un bon comportement mais non significativement différent des traitements biocides. En général, il est meilleur en valeur absolue dans les 2 premières années (LAURET, CERF), puis est supplanté les années suivantes, conjonction de 2 phénomènes : apparition plus tardive (LAURET) ou à un degré moindre (LAURET et CERF) de la mycose dans les parcelles traitées au Chlorpyrifos et baisse progressive de l'activité du produit.

IV- DISCUSSION - CONCLUSION

Ni la quarantaine qui a porté sur 5.000 larves (FERRON, 1982), ni les multiples prélèvements réalisés entre 1981 et 1987 n'avaient révélé de mycose avant l'introduction du *Beauveria*. Plus précisément, la caractérisation génomique de la souche utilisée a été faite (NEUVEGLISE, sous-pressé), permettant de s'assurer de l'identité du champignon appliqué et retrouvé.

Si les résultats apparaissent globalement cohérents, certains points doivent être expliqués. La variation des densités de populations entre certains sondages ne peuvent se comprendre qu'en les rapportant au comportement des larves dans le sol qui selon leur stade se rapprochent ou s'éloignent de la souche de canne à sucre. La date de prélèvement est donc importante. Si elle est précoce (Février dans nos conditions), on obtient un résultat paradoxal : absence ou faible taux de larves mycosées alors que le % de baisse de populations par rapport au témoin est déjà significatif (LORION, 1991-92 ; LAURET, 1991 ; CERF, 1990). Les L1 et L2, voire les oeufs, peuvent être tués par la mycose sans laisser de trace. En revanche, le 2ème prélèvement réalisé en Avril-Mai est beaucoup plus homogène. Les résultats d'un 3ème sondage en Juillet risque d'être trop favorable quant au calcul du % de

larves mycosées car celles-ci restent en place tandis que les larves actives se dirigent vers l'extérieur. A chaque campagne, on voit se développer une épidémie naturelle (Février à Juillet) sur chaque génération du ravageur, débutant dès l'année d'application, se stabilisant lors de la 2ème et 3ème année. Trois sondages suffisent donc à caractériser cette épidémie, le 3ème ne devant pas être trop tardif (Juin ou début Juillet à La Réunion).

Outre le comportement des larves au cours de leur cycle, la répartition hétérogène des larves dépend aussi du comportement semi-grégaire des adultes, entraînant des attaques en "tâches". On ne pouvait augmenter la pression de prélèvement adoptée sans augmenter l'hétérogénéité déjà élevée des essais (30 % de la culture prélevée en fin d'expérimentation).

Enfin, l'extension naturelle de la mycose aux parcelles témoins peut être due aux adultes (KELLER, 1991). La sortie du sol au crépuscule et la rentrée à l'aube, quotidienne, de centaines d'individus issus des parcelles traitées et ayant lieu durant la période de vol peut représenter autant d'inoculation naturelle du champignon assurant sa répartition de manière efficace.

On conclut donc qu'une muscardine blanche à *B. brongniartii* est parvenue à stabiliser les populations d'un ravageur endogé de type ver blanc en dessous d'un seuil de nuisibilité économique 2 ans après un traitement unique. Ce résultat est atteint quelque soit la dose (50 ou 300 kg par ha) et le type de préparation (laboratoire ou industrielle). C'est la première fois qu'un tel développement épidémiologique est décrit à un niveau agronomique. On constate aussi que les 2 qualités que doivent réunir un germe entomopathogène, persistance et potentiel infectieux semblent meilleures dans l'essai situé en altitude, dont le sol présente des différences de composition physico-chimique, élément qui sera approfondi par la suite. Il s'avère également que le renouvellement de l'inoculum infectieux pérennisant l'épidémie se situe à des niveaux très faibles de populations (0,8 à 1,6 larve de 3ème stade/m²) et d'une densité instantanée de spores infectieux estimée entre 10⁸-10⁹ spores/m², ce qui est en accord avec les seuils définis pour *Melolontha melolontha* pour le même type de mycose (FERRON, 1983). Ceci démontre, en grandeur réelle, ce qui avait été expérimentalement vérifié : la qualité première d'un germe entomopathogène que l'on envisage d'utiliser dans une opération de lutte biologique est sa virulence naturelle ou acquise, mais que le type de sol où il s'exprime peut moduler son expression (RIBA, 1991).

BIBLIOGRAPHIE

- BASSO-BERT G., 1988. Lutte chimique contre *Hoplochelus marginalis* Fairmaire. Bilan des actions à La Réunion sur canne à sucre. In : Communication présentée au 3ème Congrès International ARTAS, St-Denis, La Réunion, 16-23 Octobre 1988, p. 422-453.
- FERRON P., 1982. Rapport sur les études préliminaires portant sur la sensibilité des larves de *Hoplochelus marginalis* aux mycoses provoquées par les Hyphomycètes entomopathogènes. Dact., 3 p., 1 annexe.
- FERRON P., 1983. Induction artificielle d'une épizootie à *Beauveria brongniartii* dans une population de *Melolontha melolontha*. Symbioses, 15 : 75-83.
- GOEBEL O., 1989. Recherches sur quelques souches d'hyphomycètes entomopathogènes. Possibilité d'utilisations dans la lutte contre le ver blanc *Hoplochelus marginalis* Fairmaire (Coléoptère, Melolonthinae). Diplôme d'Ingénieur en Agronomie Tropicale, CNEARC/ESAT, 97 p.
- INSEE, 1989. Tableau Economique de La Réunion. Edition 92/93. Edition Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques, St-Denis, 199 p.
- KELLER S., 1991. Trials in Switzerland to control the larvae of the cockchafa (*Melolontha melolontha* L.) with the fungus *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. In "Groupe de Travail" "Les Entomopathogènes et nématodes parasites d'insectes", 2nd European Meeting "Microbial control of pests", Rome, 6-8 Mars 1989, XIV/1, p. 55-56. Ed. OILB SROP, 88 pages.
- NEUVEGLISE C., BRYGOO Y., VERCAMBRE B., RIBA G., 1993. Comparative analysis of molecular and biological characteristics of strains of *Beauveria brongniartii* isolated from insects. Mycological research (sous presse).
- RIBA G., HAMDAOUI F., VERCAMBRE B., BOURNOVILLE R., 1991. Ecologie des champignons entomopathogènes dans le sol. In : Rencontres Caraïbes en lutte biologique, Guadeloupe (Antilles Françaises), 5-7 Novembre 1990. Les Colloques de l'INRA, N° 58, p. 379-388. Ed. INRA, Paris, 569 p.
- VERCAMBRE B., GOEBEL O., RIBA G., MOREL G., ROBERT P., GUILLON M., 1991. Programme de lutte biologique contre *Hoplochelus marginalis* (Coleoptera : Melolonthinae), nouveau ravageur des cultures à l'île de La Réunion. In : Rencontres Caraïbes en lutte biologique, Guadeloupe (Antilles Françaises), 5-7 Novembre 1990. Les Colloques de l'INRA, N° 58, p. 371 à 378. Ed. INRA, Paris, 569 p.
- VERCAMBRE B., LATCHOUMAYA M., GAUVIN J.C., TIBERE R., TIBERE A., TIBERE D., LANGEVILLIERS M., 1991. Méthode de détermination d'un seuil de nuisibilité économique pour *Hoplochelus marginalis* Fairm. (Col., Melolonthinae), nouveau ravageur de la canne à sucre à l'île de La Réunion. In : Actes de la 1ère Rencontre Internationale en Langue Française sur la canne à sucre, Montpellier, France, 10-15 Juin 1991, p. 135-138. Ed. ACCT, Paris.

Tableau I : Modalités expérimentales des essais portant sur *Beauveria brongniartii*
(La Réunion, 1989). Experimental designs about trials on *Beauveria brongniartii*
(Reunion Island, 1989)

LIEU		PARCELLE ELEMENTAIRE		NOMBRE DE REPETITIONS	PRODUITS COMPARES	DOSE		DATE APPLICATION
ESSAI	ALTITUDE	SURFACE	DISPOSITION			PRODUIT KG/HA	MATIERE ACTIVE KG/HA	
LORION	Possession 600 m	280 m ²	11 rangs de canne de 20 m de longueur	3	RIZ RIZ TEMOIN	50 kg 300 kg -	1.10 ¹³ spores/ha 6.10 ¹³ spores/ha -	27/02 au 03/03
LAURET	Saint-Paul 600 m	240 m ²	9 rangs de canne de 20 m de longueur	4	RIZ GRA CHL-PYR. TEMOIN	300 kg 300 kg 28 kg -	6.10 ¹³ spores/ha 6.10 ¹³ spores/ha 4 kg M.A. -	20 au 24/02
CERT	La Saline 750-800 m	150 m ²	10 rangs de canne de 10 m de longueur	4	GRA GRA CHL-PYR. TEMOIN	50 kg 300 kg 28 kg -	1.10 ¹³ spores/ha 6.10 ¹³ spores/ha 4 kg M.A. -	07 et 08/03

RIZ : préparation à base de conidiospores sur grains de riz.
 GRA : préparation à base de blastospores inclus dans les granulés d'argile
 CHL-PYR : chlorphyriphos Éthyl (correspondant à la matière active incluse dans le Suxon®)

Tableau II : Résultats des essais (nombre et % de vers blancs vivants ou mycosés, analyses statistiques, quarantaine) Number and infection rate of infected white grubs or not, statistical procedures, quarantine)

ESSAI	OBJET	Vers blancs vivants par trou, % vers blancs mycosés (champ, quarantaine)									Analyses statistiques								
		1989			1990			1991			1989			1990			1991		
		P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
FORION	R 50	2,7	2,0	2,6	5,5	6,2	0,4	0,4	0,2	0,2	A	A	A	A	B	A	A	A	A
	%	0,8	19,0	14,3	10,6	40,5	91,9	0	55,0	61,9									
	%	4,2	27,7	39,1	29,6	79,9	60,0	30,0	100	80,0									
	R 300	2,5	2,1	2,1	3,5	3,5	0,3	0,3	0,2	0,1	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	%	7,5	17,4	33,0	19,2	39,4	90,5	0	61,5	75,0									
	%	54,2	22,9	29,4	23,1	73,4	85,7	57,1	50	-									
LAIPET	TEM	5,2	5,2	5,0	10,6	9,2	2,9	1,3	0,6	0,6	A	B	B	B	C	B	B	A	B
	%	0	0	0	0,6	2,7	43,2	0	6,9	24,3	NS	HS	HS	S	S	HS	NS	S	S
	%	0	0	0	18,9	5,4	18,1	0	30,0	50,0	47,4	19,2	17,4	34,6	13,4	85,4	29,4	86,2	68,7
	R 300	2,5	1,9	2,6	1,1	0,7	0,2	0,4	0,1	0,2	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	%	2,1	17,6	25,0	53,1	48,9	80,0	0	64,3	61,5									
	%	20,9	52,0	19,6	23,1	87,5	-	6,7	-	66,7									
ELET	G 300	2,5	2,1	2,1	3,4	4,0	1,1	0,6	0,7	0,4									
	%	0	1,3	16,3	21,3	18,3	63,1	0	38,6	40,7	A	A	AB	B	R	AB	A	A	AB
	%	16,3	21,3	22,4	27,1	62,4	-	20,7	58,8	44,4									
	G 200	2,1	1,4	1,0	2,9	2,1	1,9	0,6	0,6	1,0									
	%	0	0	0	0	0	2,9	0	12,0	8,6	A	A	B	B	A	BC	A	A	AB
	%	0	0	0	8,0	31,1	-	0	43,7	23,5									
ELET	TEM	2,1	5,6	4,2	4,6	6,7	2,6	1,9	0,7	1,7	A	B	C	C	C	C	B	A	B
	%	0	0	0	0,6	2,9	5,1	0	17,5	9,0	NS	HS	HS	HS	HS	HS	HS	NS	C
	%	0	0	0	2,6	28,0	-	3,3	20,8	25,0	44,0	28,9	19,3	15,0	32,5	17,7	17,0	78,8	78,8
	G 50	0,42	1,12	1,0	0,9	1,5	0,1	-	-	-	A	A	A	A	A	A			
	%	11,6	53,8	72,7	2,9	29,5	82,8												
	%	27,0	32,7	31,8	55,6	-	-												
ELET	G 400	0,02	1,07	1,20	1,1	0,8	0,1	-	-	-	A	A	A	A	A	A			
	%	12,4	29,6	71,8	17,1	38,5	86,2												
	%	0	41,0	30,4	40,0	50,0	-												
	G 200	0,20	0,20	1,0	0,8	0,6	0,2	-	-	-	A	A	A	A	A	A			
	%	0	0	0	3,1	0	10,0												
	%	0	0	0	51,3	25,0	12,5												
ELET	TEM	0,20	2,32	1,9	1,8	2,4	0,8	-	-	-	A	B	A	A	A	A			
	%	0	0	0	1,4	5,8	27,9				NS	HS	NS	NS	NS	NS			
	%	0	0	0	1,9	56,0	35,9				40,5	35,5	49,9	54,5	68,3	104			

OBJET R RIZ G : GRANULE - TEM : TEMOIN - P1, P2, P3 : N° du prélèvement
au sein de 5 %
Première ligne : Nombre de vers blancs vivants par trou
Deuxième ligne : % de vers blancs mycosés (au champ)
Troisième ligne : % de vers blancs mycosés (quarantaine)

Analyse statistique : les lettres indiquent les groupes homogènes (Test Newman-Kuels)
NS : Non Significatif - S : Significatif - HS : Hautement Significatif
La 3ème ligne indique le coefficient de variation (C.V.)